

基于 HPLC 法对罐装食品中双酚 A 的测定方法研究

Determination of bisphenol A in canned food by HPLC method

代欢欢

DAI Huan-huan

(合肥师范学院生命科学学院, 安徽 合肥 230000)

(School of Life Sciences, Hefei Normal University, Hefei, Anhui 230000, Chian)

摘要:采用中空纤维—液相微萃取—高效液相色谱法(HF—LPME—HPLC)对罐装食品中的双酚 A 含量进行测定,优化萃取剂、样品溶液 pH 值、萃取温度、萃取时间以及搅拌速率等基本数据参数,旨在建立一种简便、快捷、准确的检测方法。研究结果表明:以正辛醇为萃取剂,其选取的测定食品样本溶液 pH 值为 6.1,而相应的萃取温度则为 40 °C,时间为 40 min,相对标准偏差为 4.3%,检测限为 12.7 μg/L,食品样本中双酚 A 的富集倍数达到了 200 倍,样品平均回收率达到了 86.1%~105%。

关键词:中空纤维—液相微萃取;高效液相色谱;双酚 A;罐装食品

Abstract: The hollow fiber liquid phase microextraction high performance liquid chromatography (HF—LPME—HPLC) of bisphenol A in canned food were determined to establish a simple, fast and accurate detection method. Mainly use the two-phase hollow fiber (HF) of liquid phase microextraction (LPME) technology, combined with high performance liquid chromatography to the determination of bisphenol A (BPA) content, so as to realize the optimization of the extractant, sample solution pH, extraction temperature, extraction time and stirring rate and other basic data parameters optimization. The results of the study show that: to octanol as the extractant, the selection of the determination of food sample solution pH value of 6.1, and the corresponding extraction temperature is 40 degrees Celsius for 40 min, relative standard deviation was 4.3%. The detection limit was 12.7 g/L and bisphenol A in food sample enrichment times the number reached 200 times, the average sample recovery rate in between 86.1%~105%.

Keywords: hollow fiber liquid phase microextraction; high performance liquid chromatography; bisphenol A; canned food

双酚 A(BPA)是目前使用最为广泛的化工产品之一,是合成聚碳酸酯、环氧树脂等高分子材料的重要单体,被广泛

应用于食品包装容器中,包括像罐头、饮料瓶、水瓶等。在贮藏过程中,包装材料中的双酚 A 会迁移到食品中。虽然双酚 A 化学毒性低,但仍会导致人体内分泌失调,且具有一定的胚胎毒性和致畸性,还可增加前列腺癌、白血病、卵巢癌等疾病发生的机率^[1]。目前已用于罐装食品中化学残留物质测定的方法有气相色谱法^[2]、分光光度法^[3]、荧光测定法与高效液相色谱法^[4]等。其中高效液相色谱法和气相色谱法具有前处理时间长、操作步骤繁多,溶剂用量较大,费用较高,误差大(指标检测量与实际残留量)等缺陷;在另一方面,分光光度测定法和荧光测定法都具有高灵敏度、仪器设备简单、操作简便快速等优点,且应用广泛,但其准确度相对不高^[5];而 HF—LPME—HPLC 法总体选择性较好,且操作方便、步骤简单,成本费用较少。

本研究拟采用 HF—LPME—HPLC 法测定罐装食品及包装材料中的双酚 A 含量,旨在建立一种更简便、安全、准确的检测方法。

1 仪器与材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪:安捷伦 1260 型,配有 Prostar 363 荧光检测器,美国 Varlan 公司;

二极管阵列检测器:L-3520 型,德国诺尔公司;

超纯水机:EPED-T 型,南京易普易达科学发展有限公司;

旋转蒸发器:RE-52AA 型,上海亚荣生化仪器厂;

离心机:YT11/TGL-16 型,北京中西远大科技有限公司;

漩涡混合器:H-1 微型,上海精密仪器仪表有限公司。

1.2 材料

牛肉罐头、罐装牛奶等:市售;

双酚 A 标准物质:>99.5%,美国 Accustandard 公司;

氨基固相萃取柱:3 mL 500 mg,广州 Anpelclean 公司;

试验用水:二次蒸馏水(完全符合实验室一级用水的标准),本实验室自制;

作者简介:代欢欢(1987—),女,合肥师范学院职称实验师,硕士。

E-mail: hfdhh520@163.com

收稿日期:2016-12-19

乙腈:HPLC级,美国Fisher公司;
乙酸铵为优级纯,其他相应的试剂全部为分析纯。

1.3 试验方法

1.3.1 HPLC 条件 色谱柱:Global chromatography SP-120-5-C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm);进样量:50 μL;荧光检测器的激发波长 228 nm,发射波长:310 nm,柱温:25℃,流动相:甲醇/水体积比为 65/35。

1.3.2 液相微萃取条件 以正辛醇作为萃取剂,样品溶液 pH 值 6.2,萃取温度 40℃,萃取时间 40 min,试验过程中提取的罐装食品样品搅拌速率设定为 500 r/min。

1.3.3 标准溶液配制 准确称取 0.103 1 g 的 BPA 标准品,加入甲醇 50 mL 搅拌均匀,于 4℃、8 000 r/min、0.3 kW 条件下超声溶解 5 min,将处理后溶液转入 100 mL 容量瓶中,用二次蒸馏水定容,即得质量浓度为 1 g/L 的 BPA 标准储备溶液,置于冰箱中冷藏备用。本研究中的标准溶液均是由该标准储备液适当稀释后配制的^[6]。

1.3.4 液相微萃取操作 将中空纤维管裁剪成大约长度为 2.5 cm 的小段,并放入装有丙酮溶液的烧杯中,磁力搅拌 5 min,于 4℃、8 000 r/min、0.3 kW 条件下超声清洗 20 s,取出,空气吹干或于通风处晾干。将处理后的中空纤维管再次浸入到有机萃取剂当中,超声润洗 20~25 s,使有机萃取剂充分且均匀地进入到中空纤维管的孔壁中,待其进一步形成微液态薄膜后,取出,套在微量进样针针尖之上,推出 5 μL 萃取溶剂,并用加热后的铁钳将中空纤维管的两端密封,再投入到样品溶液中。待萃取一定的时间之后,用剪刀沿封口处的一端剪开,抽回萃取剂,注入高效液相色谱仪进行测定。

1.3.5 样本处理 准确称取 5.000 g 食品样品(包装材料剪成边长为 1 cm 大小的正方形小块),投入有 50 mL 甲醇溶液的烧杯中,使甲醇溶液完全浸没食品样品或包装材料,磁力搅拌 5 min,直接萃取,于 4℃、8 000 r/min、0.3 kW 条件下超声处理 5 min,用二次蒸馏水定容至 100 mL,制得提取液,备用。但瓶装矿泉水、罐装饮料和牛奶等,不需要对其做任何处理,即可测定。

1.3.6 常规高效液相色谱法的样品处理

(1) 固体样品:称取 10.000 g 的样品,使甲醇溶液完全浸没食品样品或包装材料,磁力搅拌 5 min,直接萃取,于 4℃、8 000 r/min、0.3 kW 条件下超声处理 5 min,放置于 50 mL 梨形瓶中,加入石油醚 15 mL,在转速 300 r/min 振荡器内振荡 10 min 左右,40℃水浴旋转蒸发至近干,再加入 5 mL 正己烷-丙酮溶液(4:6,V/V)溶解残渣。

(2) 液体样品(牛奶、矿泉水等):不作任何处理,待用。

2 结果与讨论

2.1 萃取剂的选择

在相同条件下,考察正丁醇、磷酸三丁酯、正辛醇、正己烷、乙酸乙酯 5 种萃取剂各自的萃取效果,来选择最佳萃取方案,结果见图 1。

由图 1 可知,5 种有机溶剂中,对食品样品中双酚 A 萃取效率影响程度最大的是正辛醇。可能是相对于其它 4 种溶

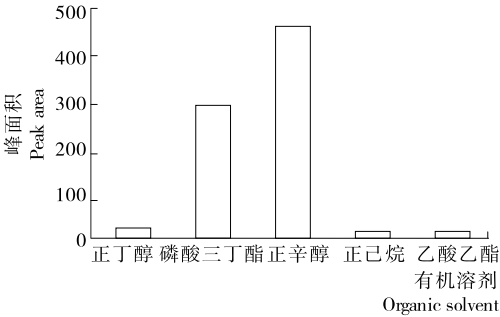


图 1 有机溶剂对双酚 A 萃取效果的影响
Figure 1 Effect of different organic solvents on the extraction efficiency of BPA

剂,正辛醇的结构与双酚 A 更为相似。因此,选择正辛醇作为有机萃取剂。

2.2 pH 值的确定

在相同条件下,考察被检测样品的 pH 值对双酚 A 萃取效果的影响,结果见图 2。

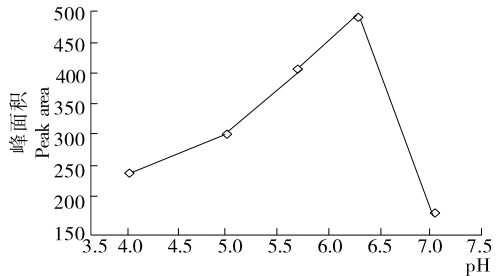


图 2 pH 值对双酚 A 萃取效果的影响
Figure 2 Effect of pH on extraction efficiency

由图 2 可知,当食品样品的 pH 值为 4.0~6.1 时,双酚 A 萃取效率随着 pH 值的增大而增大;pH 值为 6.1 之后,双酚 A 萃取效率迅速降低。因此,样品溶液的 pH 值确定为 6.1。

2.3 萃取温度的确定

对萃取样品采取内部整体加热的方式,从其处理后的热量穿透到待萃取样品的内部,如此一来,就能够将加热后产生的热量直接作用到样品介质分子中。在试验设计加热过程中,应尽可能地保证整个样品在同一时间被加热,并且样品加热均匀性要好。在相同条件下,考察萃取温度对双酚 A 萃取效果的影响,结果见图 3。

由图 3 可知,食品样品萃取温度为 20~40℃时,萃取溶剂的溶解能力随着温度的上升不断增大;40℃之后迅速下降。可能是萃取温度慢慢上升,在提高溶剂溶解能力的同时,也能够有效降低溶剂的黏度和表面张力,并且还能够在破坏待分析组分和基质活性部位之间的作用力。因此,最佳萃取温度为 40℃。

2.4 萃取时间的确定

在相同条件下,考察萃取时间对双酚 A 萃取效果的影响,结果见图 4。

由图 4 可知,萃取时间为 10~40 min 时,食品样品中双酚 A 萃取随萃取时间的增加萃取效果越来越显著;40 min

之后萃取效果逐渐降低。因此,最佳萃取时间为 40 min。

2.5 搅拌速率的确定

搅拌速率是影响分析速度的重要因素,适当地搅动待测样品溶液,能够改善传质的过程,但搅动的速率过大,容易产生气泡,如黏附在中空纤维管膜的微孔内,会阻碍传质过程,而且会加快有机溶剂的挥发。在相同条件下,考察搅拌速度对双酚 A 萃取效果的影响,结果见图 5。

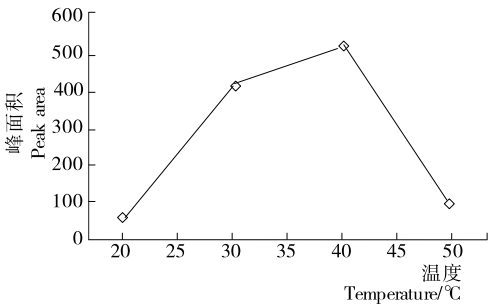


图 3 萃取温度对双酚 A 萃取效果的影响
Figure 3 Effect of extraction temperature on the extraction efficiency of BPA

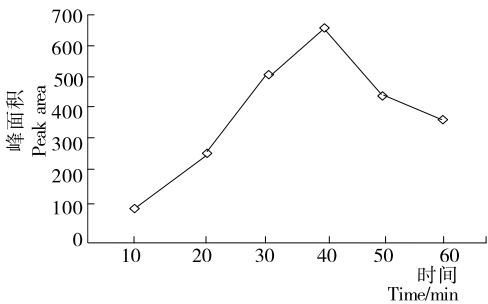


图 4 萃取时间对双酚 A 萃取效果的影响
Figure 4 Effect of extraction time on the extraction efficiency of BPA

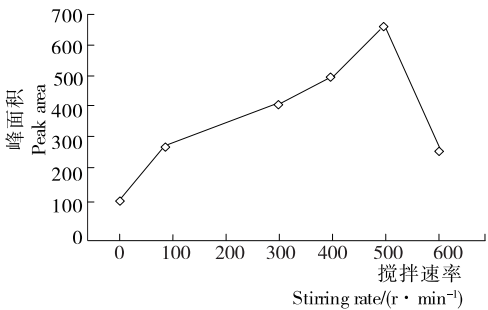


图 5 搅拌速率对双酚 A 萃取效率的影响
Figure 5 Effect of stirring rate on the extraction efficiency of BPA

由图 5 可知,当磁子转速从 0 增加至 500 r/min 时,食物样品中双酚 A 的萃取效率逐渐增大;而转速达到 500 r/min 时,萃取效果最佳。可能是适当加快搅拌速率,可使得两相之间的界面扩散层逐渐变薄,最终造成了传质速率的大大增加;当搅拌速度过快(超过 500 r/min)时,纤维表面易吸附搅拌产生的气泡,进而影响萃取效果。

2.6 实际样品的测定

选取了 3 份罐装牛奶样品,运用已经优化的液相微萃取条件(LPME)和 HPLC 条件,即液相微萃取联合高效液相色谱(以正辛醇为萃取剂,样本溶液 pH 值 6.1,萃取温度 40 ℃,萃取时间 40 min,搅拌速度 500 r/min),在两者结合之下来进行样品的测定与分析。在经过 3 次重复测定之后,得出分析结果见图 6。由图 6 可以观察出,此次试验检测出了双酚 A 的色谱峰,总体上来看,效果比较好,且谱图背景相对较干净。

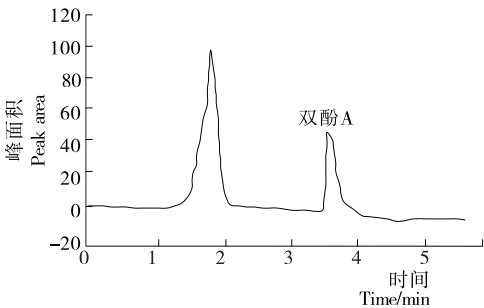


图 6 罐装牛奶溶液色谱图
Figure 6 Chromatogram of the milk solution

2.7 加标回收率及其精密度

运用 HPLC 法对罐装食品进行的双酚 A 含量测定,结果(表 1)显示,包括肉罐头、饮料在内,其加标回收率分别为 86.1%~105%,其中肉罐头的检测样品为 81%~94%,并计算出其相对标准偏差为 3.2%,4.8%,检出限为 1.2 μg/L。

2.8 与常规测定方法比较

由表 2 可知,两种检测方法的平均加标回收率差异明显,

表 1 加标回收率、精密度
Table 1 Recoveries and precision (n=5)

样品	测定值/ μg	加入量/ μg	测定总量/ μg	回收率/ %	RSD/ %
肉罐头	45.7	20.0	61.7	81.2	4.8
		60.0	101.8	94.1	3.9
饮料	17.6	20.0	38.6	105.1	4.1
		60.0	68.7	86.2	3.2

表 2 实际样品测定结果分析

Table 2 Results of determination of the actual sample analysis (n=3)

样品	双酚 A 含量/(mg · L ⁻¹)		加标浓度/(mg · L ⁻¹)		检测浓度/(mg · L ⁻¹)		平均加标回收率/%	
	HF—LPME— HPLC	常规方法	HF—LPME— HPLC	常规方法	HF—LPME— HPLC	常规方法	HF—LPME— HPLC	常规方法
罐装牛奶	0.12	0.12	0.18	0.18	0.29	0.31	91.6	82.7
瓶装矿泉水	—	—	0.21	0.21	0.20	0.18	105.0	90.0
罐装饮料	—	—	0.20	0.22	0.19	0.19	95.5	86.5
牛肉罐头	—	—	0.20	0.20	0.20	0.16	90.0	83.0

(下转第 121 页)

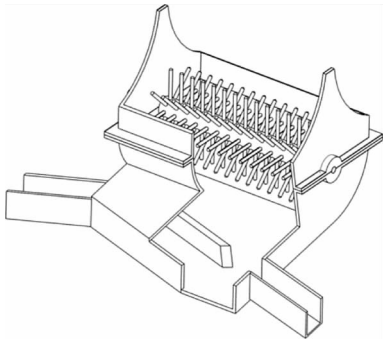


图 5 分选装置结构原理图
Figure 5 Sorter structure diagram

所示,主要由搅拌装置及风机分选装置构成。此装置倾斜固定在机架上,风机通过支架固定在机架上。当电动机启动后,搅拌装置的传动轴在胶带轮的带动下转动,碎壳和果实掉落至旋转的搅拌棒上,从而使碎壳与果仁进一步分离。壳仁在此装置的斜槽内同时滑下时,在风机气流的作用下由重力作用通过两侧溜槽被吹出机外,果壳出口为左侧出料槽,果仁反之,最终果壳与果仁实现分离。

3 结论

- (1) 通过对橡胶果物理特性进行详细的了解,设计了一种较有创新性的脱壳、清选方法,采用切割(撞击)、挤压、搅拌分离原理及风机对碎壳和果仁的清选原理,并根据此原理设计出脱壳机。
 - (2) 此装置可以实现橡胶果的快速脱壳和壳仁快速分离,具有脱壳效果好,对原料含水率、大小等要求较低,结构简单、性能稳定等特点。
 - (3) 该脱壳原理还可适用于与橡胶果类似的物料及部分坚果的脱壳,具有普遍适用性。
- 通过资料检索、优化关键脱壳部件脱壳滚筒形式,综合

考虑脱壳的可行与简便性构建了此脱壳机,此装置暂停留在参数的理论研究阶段,此后还需在样机的工作参数、脱壳工艺以及物料特性等方面展开脱壳性能试验研究,着重分析脱壳辊筒线速度、速度差、滚筒间及刀具的间距等因素对脱壳指标的影响规律,以期为橡胶果脱壳设备的改进提供理论依据。

参考文献

[1] 王震, 张曦, 陶琳丽, 等. 橡胶籽资源的潜在开发利用价值研究[J]. 云南农业大学学报, 2015, 30(4): 642-647.

[2] 麦贤豪, 王涛, 林勇, 等. 橡胶果剥壳机设计[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 112-114.

[3] 高学梅, 胡志超, 谢焕雄, 等. 打击揉搓式花生脱壳试验研究[J]. 中国农机化, 2012(4): 89-93, 27.

[4] 高连兴, 杜鑫, 张文, 等. 双滚筒气力循环式花生脱壳机设计[J]. 农业机械学报, 2011, 42(10): 69-73.

[5] 张嘉玉, 王延耀, 连政国, 等. 橡胶滚筒橡胶直板脱壳装置[J]. 农业机械学报, 1996, 27(2): 66-69.

[6] 朱立学, 罗锡文, 刘少达. 轧辊—轧板式银杏脱壳机的优化设计与试验[J]. 农业工程学报, 2008, 24(8): 139-142.

[7] 何焯亮, 王涛, 嵇明志, 等. 橡胶籽壳破碎试验研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 128-131.

[8] 王云. 一种橡胶籽脱壳设备: 中国, CN102160676[P]. 2011-08-24.

[9] 王旺平, 谭易腾. 新鲜莲子剥皮去衣机的研制[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 118-122.

[10] 李晓霞, 郭玉明. 带壳物料脱壳方法及脱壳装备现状与分析[J]. 农产品加工学刊, 2007(4): 83-86.

[11] 李建东, 梁宝忠, 尚书旗. 钢齿双辊筒式花生脱壳装置的试验研究[J]. 农业技术与装备, 2008(6): 33-35.

[12] 郭瑞琴, 刘竹丽. 新型食用杏核脱壳装置[J]. 机械设计与研究, 2004(8): 83-84.

(上接第 95 页)

HF—LPME—HPLC 法效果要远优于常规 HPLC 法。通过液相微萃取联合高效液相色谱法的引入,极大改善了以往 HPLC 法在测定双酚 A 过程所受到外部因素干扰的问题,表明 HF—LPME—HPLC 法具备较好的选择性。

3 结论

本试验采用中空纤维—液相微萃取—高效液相色谱法(HF—LPME—HPLC)对罐装食品中的双酚 A 进行测定,建立了一种简便、快捷、准确且成本低的检测方法^[7]。该法将 LPME 与 HPLC 检测方法相契合,极大地提高了常规 HPLC 法的选择性和灵敏性,萃取效率高,且囊括了萃取、净化、富集等功用,具有推广应用价值。

参考文献

[1] 张彦丽, 任佳丽, 李忠海, 等. 食品包装材料中双酚 A 的研究进

展[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 155-157.

[2] 夏英, 张澜, 赵尔成, 等. 分散固相萃取/分散液液微萃取—气相色谱法测定甘蓝中的拟除虫菊酯类农药残留[J]. 分析测试学报, 2014, 33(2): 192-196.

[3] 高明慧, 周仕林, 杨卓圆, 等. 氨基酸—乙酰丙酮分光光度法测定水样中甲醛[J]. 理化检验: 化学分册, 2014, 50(1): 50-53.

[4] 赵海香, 刘海萍, 闫早婴. 多壁碳纳米管固相萃取净化—高效液相色谱法测定猪肉和鸡肉中的磺胺多残留[J]. 色谱, 2014(3): 294-298.

[5] 方晓明, 周浩, 冯春野, 等. 高效液相色谱/荧光法测定罐头食品中双酚 A 类物质的研究[J]. 分析测试学报, 2014, 33(12): 1 393-1 398.

[6] 吴茵琪, 钟月香, 蒋小良, 等. 微波萃取—高效液相色谱法测定食品塑料包装材料中双酚 A 含量[J]. 包装与食品机械, 2015(3): 62-65.

[7] 黄艳红, 丁健桦, 邱昌福, 等. 液相微萃取高效液相色谱法测定乳制品中的三聚氰胺[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 161-164.